

Aus der WE Anatomie der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische
Beobachtungen der exkretorischen
Pankreassekretion unter dem Einfluß
von Pilocarpin

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rudolf Schlüter
aus Bernburg

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549024_0022

Aus der WE Anatomie der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

Elektronenmikroskopische
Beobachtungen der exkretorischen
Pankreassekretion unter dem Einfluß
von Pilocarpin



Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rudolf Schlüter
aus Bernburg

Referent: Professor Dr.med.Willy Schwarz

Korreferent: Professor Dr.med. Elmar Stöcker



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30. Juni 1976

Für Isa

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	3
Material und Methode	12
Befunde	14
Diskussion	17
Zusammenfassung	21
Bildmaterial	23
Literaturverzeichnis	34

Einleitung

I. Histologische Grundlagen.

Das exokrine Pankreas stellt eine rein seröse Drüse dar, deren Acini in gut fixierten Präparaten eng aneinandergelagert sind. Bedingt durch acidophile Zymogengranula zeigen die Drüsenzellen vornehmlich apikal eine körnige Struktur. Es handelt sich hierbei um Prosekretkörnchen, deren Menge in Abhängigkeit zum Funktionszustand der Drüse steht. Im basalen Cytoplasma der exokrinen Pankreaszellen finden sich kuglige Zellkerne, deren große Nukleolen ein Zeichen der Proteinsynthese sind. Die Basophilie des Protoplasmas ist auf den hohen Gehalt an Ribonukleotiden zurückzuführen. Elektronenmikroskopisch fällt hier ein Reichtum an Ergastoplasma auf (1).

Das Ausführungsgangsystem ist auf lange Schaltstücke beschränkt, die direkt in die größeren Ausführungsgänge münden. Streifenstücke fehlen (2).

II. Physiologische Anmerkungen.

Morphologisch und funktionell lassen sich beim exokrinen Pankreas zwei Strukturelemente trennen. Einmal finden sich Gangepithelien sowie sogenannte Schaltstückzellen und zentroacinäre Zellen, welche deren Fortsetzung in die Acini darstellen, andererseits Acinuszellen, welche die Drüsenendstücke auskleiden. Diese bestehen aus einer einzigen Lage epithelialer Zellen, die einer Basalmembran aufliegen und deren apikale Anteile ein zentrales Lumen bilden (3). Die Acinuszellen sezernieren in erster Linie die Verdauungsenzyme des Pankreas, während hingegen die zentroacinären und die Schaltstückzellen hauptsächlich Wasser und Ionen sezernieren. Das farblos transparente Pankreassekret besteht aus anorganischen und organischen

Substanzen in wässriger Lösung, deren pH zwischen 8 und 8,7 liegt.

1. Anorganische Substanzen (Wasser und Ionen)

a.) Anionen: Bicarbonat, Chlor, Phosphat.

Bicarbonat und Chlor werden in reziprokem Verhältnis zueinander sezerniert. Bicarbonatanstieg und Chloridkonzentrationsabfall sind die Folge einer gesteigerten Sekretionsrate.

b.) Kationen: Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium.

Natrium und Kalium bilden den Hauptanteil der Kationen. Sie bleiben unbeeinflusst von der Sekretionsrate.

Die Abgabe von Wasser und Bicarbonat dient der Ausschwemmung der Enzyme (hydrokinetische Pankreasfunktion) und der Neutralisation des Magensafts im Duodenum, womit das pH-Optimum der Verdauungsenzyme des Pankreas geschaffen wird (4).

2. Organische Substanzen des Pankreassekrets.

Es handelt sich hierbei um eiweiß-, kohlehydrat- und fettsplattende Enzyme:

α -Amylase, Lipase, Sterinesterhydrolase, Phospholipase, Trypsin, Chymotrypsin A-B-C, Elastase, Kollagenase, Kallikrein, Carboxypeptidase A-B, Ribonuclease A-B-C-D, Desoxyribonuclease A-B-C-D.

Amylase und Lipase werden in ihrer aktiven Form sezerniert. Peptidasen und Phospholipasen liegen als Proenzyme vor, die durch Trypsin aktiviert werden, welches im Duodenum durch die von der Duodenalschleimhaut gebildete Enterokinase aus Trypsinogen freigesetzt wird (5).

In Gegenwart von Calciumionen und Spuren freien Trypsins erfolgt die Aktivierung von Trypsinogen auch auf autokatalytischem Wege.

In den Acinuszellen werden außerdem Inhibitoren gebildet, die eine vorzeitige Aktivierung von Proteasen in der Drüse verhindern(7,8).

3. Sekretionsauslösende Mechanismen.

a.) Nervale Reize.

Verantwortlich für die autonome nervale Versorgung sind der nervus vagus und der nervus splanchnicus (sympathicus). Beide Qualitäten erreichen als sekretorische Nervenfasern die Drüsen. Motorische Nervenfasern ziehen zu der glatten Muskulatur der Pankreasgefäße und der Pankreasgänge. Im Pankreas selbst sind zahlreiche parasymphatische Ganglien gefunden worden, deren postganglionäre Fasern sowohl die Pankreasgänge als auch Insel- und Acinuszellen erreichen. Bei Reizung der Nervenfasern wird als Überträgersubstanz Acetylcholin aus den Vesikeln des Axon freigesetzt und gelangt zur Zellwand. Dort befinden sich spezifische Rezeptoren. Die sympathischen Fasern erreichen das Pankreas bereits als postganglionäre Fasern und ziehen unmittelbar an die Blutgefäße (5). Zahlreiche Nervenfasern ziehen entlang der Wand des Duodenums, bevor sie das Pankreas erreichen (9).Bedeutende vom Duodenum ausgehende nervale Einflüsse auf die Pankreassekretion mögen hierin ihre Ursache haben.

Ursache der nervalen Stimulation ist einerseits ein psychischer Reiz (z.B. der Anblick einer Speise), andererseits der Dehnungsreiz des Magens nach Nahrungsaufnahme (10).

b.) Hormonale Reize.

Hauptverantwortlich für die hormonale Stimulation des exokrinen Pankreas sind die Hormone Sekretin und Pankreozymin. Das in der Antrumschleimhaut gebildete Gastrin bewirkt wegen seiner chemischen Ähnlichkeit zu Pankreozymin ebenfalls eine gesteigerte Enzymausschüttung. Das aus dem proximalen Dünndarm und dem Duodenum stammende Sekretin bewirkt eine erhöhte Wasser und Bicarbonatsekretion. Es wirkt also auf die Schaltstückzellen und zentroacinären Zellen und bewirkt eine Ausschwemmung von präformierten Enzymen.

Pankreozymin, ein Hormon der oberen Dünndarmschleimhaut, veranlaßt die Entleerung der Zymogengranula in das Lumen der Acini. Außerdem steigert es die Enzymsynthese. Neben diesen Wirkungen wurde auch ein gewisser hydrokinetischer Effekt nachgewiesen (5).

c.) Intestinale Reize.

In das Duodenum gelangte Nahrungsbestandteile sowie die Salzsäure des Magens stellen einen indirekten Reiz auf die Pankreassekretion dar, indem nämlich Fette und Eiweißabbauprodukte das Pankreozymin und die Salzsäure das Sekretin freisetzen. Auch die Galle übt einen erheblichen

Reiz auf die Pankreassekretion aus (5).

III. Synthese der exokrinen Pankreasenzyme.

Die exokrine Pankreaszelle synthetisiert ihre Verdauungsenzyme und Zymogene auf den Ribosomen des Endoplasmatischen Retikulums nach den Prinzipien der Proteinbiosynthese (11).

Zu diesem Zweck synthetisiert die Desoxyribonucleinsäure des Zellkerns aus Nucleotidbausteinen die sogenannte m-RNS, die durch die Poren der Zellmembran wandert und sich im Cytoplasma auf die Ribosomen des Endoplasmatischen Retikulums auflagert. Diese trägt die genetische Information für das zu bildende Protein.

Die für den Transport der Aminosäuren erforderliche t-RNS wird ebenfalls von der DNS gebildet und an das Cytoplasma abgegeben. Für jede Aminosäure existiert mindestens eine spezifische t-RNS, die an ihrer Aminosäureerkennungsregion eine ganz bestimmte Nucleotidsequenz aufweist, mit deren Hilfe die spezifische Aminosäure unter Energieverbrauch (ATP) gebunden wird (12). Die aktivierte Aminosäure wird so zur m-RNS transportiert. Unter Berücksichtigung des genetischen Codes der m-RNS wird somit eine Aminosäure an die andere gereicht, bis das vollständige Protein bzw. das Enzym synthetisiert ist.

IV. Intrazellulärer Transport der exokrinen Pankreasenzyme.

Von den Ribosomen des granulierten Endoplasmatischen Retikulums gelangen alle Sekretproteine durch eine Phospholipoidmembran in die Zisternen des granulierten Endoplasmatischen Retikulums (11,13,14).

Redman zeigte 1966, daß der Transport von Protein durch die mikrosomale E.R.- Membran hindurch keine

Veränderung im Phospholipidstoffwechsel bewirkt und nicht an die Anwesenheit von ATP oder irgendwelchen Enzymen gebunden ist. Die einzige Notwendigkeit für den Transport des Proteins durch die E.R.- Membran ist dessen Freisetzung von den Ribosomen, was Redman in vitro mit Puromycin erreichte (15).

In den Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums wandert das Sekretprotein, möglicherweise durch Diffusion oder durch Pinocytose, in die dem Golgi Komplex naheliegenden Regionen (16).

Jamieson und Palade zeigten, daß die Synthese der Sekretproteine und deren Transport zwei voneinander unabhängige Schritte sind. Der Intrazellulärtransport ist nicht das Ergebnis eines kontinuierlichen Nachschubes an Sekretproteinen von den Ribosomen zu den Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums (17).

Die nächste Stufe des sekretorischen Ablaufes stellt der Intrazellulärtransport der Proteine zu den Kondensationsvakuolen des Golgi Komplexes dar.

Wie Jamieson und Palade durch Radiomarkierungsexperimente belegen konnten, vollzieht sich dieser Schritt mit Hilfe kleiner Vesikel, die in der Peripherie des Golgi Apparates lokalisiert sind (18).

Diese glattflächigen Vesikel stellen das Transportsystem dar, über welches die Sekretproteine aus den Zisternen des Endoplasmatischen Retikulums in die Kondensationsvakuolen des Golgi Komplexes gelangen.

Der zu Beginn energieunabhängige Intrazellulärtransport ist an dieser Stelle von einer kontinuierlichen Energiezufuhr, wahrscheinlich in Form von ATP, abhängig. Bei blockierter Energiezufuhr wird der Transport auf der Seite der kleinen peripheren Vesikel des Golgi Komplexes unterbrochen. Die Details dieses Vorganges sind bislang unbekannt.

Die Zelle mag intermittierende Verbindungen zwischen diesen Gliedern des Intrazellulärtransportes aufbauen oder den Transport zwischen ihnen mittels der

kleinen peripheren Vesikeln als pendelnde membranöse Carrier bewerkstelligen. Beide Möglichkeiten stellen eine wiederholte Trennung und Vereinigung von Membranen dar. Hier liegt mit größter Wahrscheinlichkeit ein energieverbrauchender Vorgang vor (16).

Die radioautographischen Untersuchungen von Caro und Palade (1964) haben festgestellt, daß die Proteine zu den Kondensationsvakuolen des Golgi Komplexes transportiert werden, wo sie intensiv konzentriert werden. Während dieses Prozesses wandeln sich die Kondensationsvakuolen zu Zymogengranula um. Dies wurde von Jamieson und Palade an Hand von elektronenmikroskopischer Radioautographie von Pankreasschnitten bestätigt.

Es ist anzunehmen, daß die Sacculi keinen direkten Zusammenhang mit dem Transport und der Konzentration der Sekretproteine haben. Nur bei Ratte und Maus scheinen sich die Kondensationsvakuolen aus den innersten geschichteten Zisternen (Sacculi) zu bilden (19).

Eine vergleichbare Situation existiert in anderen sekretorischen Zellen, wo die Funktion der Kondensationsvakuolen von den Sacculi des Golgi Komplexes übernommen wurde (20,21,22,23).

Die Umwandlung der Kondensationsvakuolen in Zymogengranula ist ein energieunabhängiger Schritt.

Die letzte Stufe im Intrazellulärtransport stellt der Übertritt des Sekrets, auf entsprechenden Reiz hin, in das Drüsenlumen dar. Hierzu lagern sich die Membranen des apikalen Plasmalemm und der Zymogengranula aneinander und ermöglichen durch Bildung einer Öffnung den Austritt der Sekretproteine in das Pankreasdrüsenlumen.

Die Ausschleusung der Zymogengranula erfordert keine kontinuierliche Proteinsynthese, ist jedoch an Energielieferung aus der Atmungskette gebunden. Somit wird hier zum zweiten Mal auf dem Wege des Intrazellulärtransportes ein energieabhängiger Schritt beschrieben. Der erste Schritt verband zwei Intrazellulärabteilungen, die Zisternen des rauen Endoplasmatischen Retikulums und die Kondensationsvakuolen. Der zweite verbindet die Intrazellulärabteilung der Zymogengranula mit dem Acinuslumen. Der Energiebedarf für diese Zymogenausschleusung steht möglicherweise in Zusammenhang mit den Membranschmelzungen und Trennung der Zymogengranula und des apikalen Plasmalemm (24).

V. Wirkungen von Pilocarpin

Pilocarpin ist ein direktes Parasympathomimetikum. Es reagiert also selbst mit dem Rezeptor und hat einen postganglionären Angriffspunkt. Es reagiert spezifisch mit den postganglionären parasympathischen Acetylcholinrezeptoren und entspricht somit in seiner Wirkung dem Acetylcholin. Es wird nicht oder nur sehr langsam von der Cholinesterase abgebaut (25).

Speichel-, Magen-, Pankreas- und Intestinaldrüsen sowie die mukösen Zellen des Respirationstraktes werden von Pilocarpin stimuliert (26). Dabei wird die Sekretion stark vermehrt. In dieser Arbeit sollen Veränderungen und Vermehrung der Sekretbildung über das Endoplasmatische Retikulum,

über die Kondensationsvakuolen bis zur Bildung von Sekretgranula und deren Ausschleusung bei Einwirkung von Pilocarpin elektronenmikroskopisch untersucht werden.

Material und Methode

Versuchstiere : Ratten der Rasse Sprague Dawley mit
einem Gewicht von 200 Gramm.

Medikament : Pilocarpinum hydrochloricum
Dosis : 100 mg/kg Körpergewicht (27)

Pilocarpin wurde intraperitoneal injiziert.

Nach einer und drei Stunden wurden die Tiere äther-
narkotisiert getötet.

Ein unbehandeltes Versuchstier wurde zu Vergleichszwecken
ebenfalls getötet.

Von dem entnommenen Pankreasmaterial wurden histo-
logische Präparate wie folgt angefertigt.

A. Karnowski modifiziert (3% Glutaraldehyd, 3% Para-
formaldehyd und Natrium Cacodylatpuffer. Auf 100 ml
dieser Lösung 50 mg $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

Nachfixierung mit 1% OsO_4 und Cacodylatpuffer
(ph 7,2).

B. Die entnommenen Pankreasgewebe wurden in auf-
steigender Acetonreihe gewässert und in Mikropal
eingebettet.

C. Zur Orientierung im Block wurde mit dem Reichert
Mikrotom eine Serie von Semidickschnitten (0,5 bis 1 μ)
hergestellt, die anschließend mit alkalischer Giemsa-
lösung gefärbt wurden.

Dünnschnitte wurden mit dem LBK-Ultratom III ange-
fertigt, auf sogenannten Lochblenden aufgefangen und
mit Uranylacetat und Bleicitrat nach Reynolds nach-
kontrastiert.

- D. Die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte mit Siemens - Elmiskopen I und Ia bei einer Strahlenspannung von 80 KV und Primärvergrößerungen zwischen 10000 und 30000. Die Auswertung wurde bei 3,5 facher Nachvergrößerung auf Papier vorgenommen.

Befunde

Pilocarpin wurde in einer Dosis von 100 mg/kg intra-peritoneal injiziert. Es wirkte über eine Zeit von einer bzw. drei Stunden in vivo.

Die elektronenmikroskopischen Befunde nach einer und nach drei Stunden entsprechen sich grundsätzlich. Die an dem Sekretionsvorgang beteiligten Strukturen der Acinuszellen zeigen jedoch in beiden Versuchsreihen gewisse Unterschiede.

In den nach einer Stunde erhaltenen elektronenmikroskopischen Bildern zeigen die Zellkerne eine leicht wellige Oberflächenkontur (Bild 4).

Im Gegensatz hierzu ist die Oberfläche der Zellkerne in den nach drei Stunden gewonnenen Aufnahmen glatt. Der Kern ist ungeschrumpft (Bild 1).

Auffällig sind hier die auf der äußeren Membran der Kernhülle perlschnurartig aufgereihten Ribosomen. Dieser Befund fehlt in den lediglich eine Stunde lang stimulierten Acinuszellen.

In den perinucleären Räumen der Acinuszellkerne in den Kontrollaufnahmen ist keinerlei dichtes Material vorhanden. Sie erscheinen im Elektronenmikroskop daher hell. Bei den Pankreasacinuszellen der unter Pilocarpin stehenden Tiere erscheint der perinucleäre Raum elektronendicht. Hier kommen nicht mehr meßbare, fädige Strukturen vor. Dieser Befund ist besonders deutlich in den nach drei Stunden erhaltenen Aufnahmen.

In Bild 2 ist ein Zellkern tangential angeschnitten. Dadurch werden die sogenannten Kernporen sichtbar. Sie haben einen Durchmesser von ca. 1000 Å und liegen somit über dem normalen Porendurchmesser des Kerns von 400 bis 800 Å (1).

Das Endoplasmatische Retikulum tritt in allen Aufnahmen

als geordnetes System von paarweise angeordneten Lamellen (Doppellamellen von etwa 300 bis 400 Å im Durchmesser) auf. Sein Durchmesser liegt damit im unteren Normbereich.

Nur vereinzelt bildet das granulierte Endoplasmatische Retikulum Vesikuli.

Bereits nach einstündiger Stimulation mit Pilocarpin zeigen die Acinuszellen des entnommenen Pankreasgewebes ungeordnet konfluierende Sekretmassen. Dieses Sekret ist elektronenoptisch wenig dicht. Es erscheint inhomogen. Eine das Sekret umgebende Membran ist auf keiner der erhaltenen Aufnahmen auszumachen.

Auf Bild 4 verwischen die zusammengefloßenen Sekretmassen die Grenzen der einander benachbarten Acinuszellen. An etlichen Stellen läßt sich nicht erkennen, ob das Sekret aus der ihr zugehörigen Zelle über deren Grenzen hinweg in die Nachbarschaftszellen übergetreten ist. Vor allem ist das Sekret in den Interzellularräumen zu finden, die an diesen Stellen stark erweitert sind. Die an anderen Stellen deutlich erkennbaren Zellgrenzen zeigen einen auffällig geschlängelten Verlauf.

In Gegensatz zu diesen Befunden zeigen die Aufnahmen nach drei Stunden (Bild 1,2,3,5) kein ungeordnet konfluierendes Sekret. Hier liegt das Sekret in Form von Kondensationsvakuolen bzw. Zymogengranula vor. Die Vakuolen haben einen mittleren Durchmesser von ca. 5700 Å.

Der Interzellularspalt zwischen den einzelnen Acinuszellen ist auf ca. 430 Å erweitert und mit elektronenoptisch wenig dichtem Material versehen.

Auf Aufnahme 5 erkennt man links unten ein Acinuslumen, in das längs- und quergeschnittene Mikrovilli hinein-

ragen. Das Lumen ist mit homogenem Sekret ausgefüllt. Zahlreiche Zymogengranula sind in den Apices der Acinuszellen zu erkennen.

Unter dreistündiger Pilocarpineinwirkung tritt, wie in Aufnahme 2 zu sehen ist, ein Riesenmitochondrium auf. Es hat einen Längsdurchmesser von $2,8 \mu$ und einen queren Durchmesser von $0,3 \mu$. Die Mitochondrien der unter dreistündigem Pilocarpineinfluß stehenden Acinuszellen zeichnen sich durch ihre hohe elektronenoptische Dichte aus.

Diskussion

Nach Einwirkung hoher Dosen von Pilocarpin auf die Acinuszellen des exokrinen Rattenpankreas zeigen deren Kerne erhebliche Veränderungen.

Die Zellkerne sind verglichen mit den Zellkernen anderer unbehandelter Acinuszellen geschwollen. Diese sogenannte funktionelle Kernschwellung ist ein Zeichen gesteigerter Stoffwechselaktivität. Isotopenuntersuchungen ließen erkennen, daß diese Kernschwellung mit einer vermehrten Neubildung von makromolekularer Kernribonucleinsäure sowie einer Zunahme des Hydratationswassers einhergeht (1).

Der vorliegende Befund läßt vermuten, daß Pilocarpin die Syntheserate der im Kern gebildeten Ribonucleinsäuren steigert. Die erhöhte Syntheserate von Ribonucleinsäuren im Kern kommt durch einen zweiten Befund zum Ausdruck. Zwischen den beiden Lamellen der Kernmembran, im sogenannten perinucleären Raum, findet man nach Pilocarpingabe in dem sonst elektronenoptisch leeren Raum jetzt elektronenoptisch dichtes, fädiges Material in großer Menge. Bei diesem Material handelt es sich wahrscheinlich ebenfalls um Ribonucleinsäuren (m-RNS, t-RNS).

Diese RNS Formen verlassen den Kern, um ins Protoplasma einzutreten. Es läßt sich an Hand der erhaltenen elektronenmikroskopischen Aufnahmen nicht vollkommen entscheiden, ob sie zum Durchtritt durch die Kernmembran die sogenannten Kernporen benutzen oder aber an anderer Stelle durch die Membran treten.

Auffällig jedenfalls ist die unter Pilocarpineinwirkung sichtbare Vergrößerung der Kernporen mit einem mittleren Durchmesser von 1000 Å. Dieser Befund läßt auf eine Beteiligung der Kernporen an der Ausschleusung von Kernmaterial in die Cytoplasmamatrix schließen.

Analog zu dem massiven Auftreten von elektronenoptisch dichtem, fädigem Material im sogenannten perinucleären Raum ist die auffällige Vermehrung der Ribosomen auf dem äußeren Blatt der Kernmembran.

Dieser Befund spricht ebenfalls für eine erhöhte Syntheseleistung der Kerne unter Pilocarpineinwirkung, da die Ribosomen ja bekanntlich im Nucleolus gebildet werden.

Wie erwähnt ist das Vorhandensein von den drei Ribonucleinsäureformen eine Voraussetzung für die Proteinbiosynthese und damit auch für die Sekretprotein-synthese.

Das vermehrte Auftreten von fädigem Material (RNS) in perinucleären Räumen und von dicht bei dicht gelagerten Ribosomen auf der äußeren Lamelle der Kernmembran weist auf eine gesteigerte Synthese von Pankreasenzymen hin.

Wie hoch die Syntheserate tatsächlich ansteigt, läßt sich nur qualitativ an Hand der erhaltenen elektronenmikroskopischen Aufnahmen vermuten.

Auffällig jedenfalls ist die nach einstündiger Pilocarpinwirkung veränderte Sekretausstoßung der Pankreasacinuszelle.

Es fehlen die in der unstimulierten Acinuszelle vorhandenen Kondensationsvakuolen und Zymogengranula.

An deren Stelle steht hier ein massives Ausfließen der Sekrete in die Interzellularräume im Vordergrund.

Aus diesem Befund ist zu ersehen, daß die Sekretausstoßung beschleunigt ist und an dieser Stelle ohne Bildung von Zymogengranula vor sich geht.

In den unter dreistündiger Pilocarpinwirkung stehenden Pankreasacinuszellen wird das Sekret in Form von Kondensationsvakuolen und Zymogengranula transportiert. Auch hier findet man geringe Mengen Sekret in den Interzellularräumen (Bild 3). Es könnte sich hierbei

auch um die Reste der nach einer Stunde beobachteten überschießenden Sekretausschleusung handeln.

Die Mitochondrien in diesen Aufnahmen sind elektronenoptisch dichter als die von unbehandelten Zellen.

Sämtliche Mitochondrien sind vom Crista Typ.

Diese Befunde sind als Zeichen gesteigerter mitochondrialer Aktivität zu deuten. Für eine gesteigerte Aktivität spricht auch das Auftreten von Riesenmitochondrien.

Es ist zu vermuten, daß die unter Pilocarpinwirkung von den Mitochondrien vermehrt gebildete Energie (ATP) für die Proteinbiosynthese oder für die bereits oben erwähnten energieabhängigen Transportschritte verwandt wird.

Ichikawa (28) vermutet, daß das Hormon Pankreozymin an der Acinuszelle des Hundepankreas lediglich einen stimulierenden Einfluß auf den Transport und die Ausschleusung der Sekretenzyme hat.

Im Einklang zu seinen Ergebnissen stehen die biochemischen in vitro Untersuchungen von Hokin und Hokin (29). Diese Autoren kommen zu dem Schluß, daß das im Duodenum gebildete Pankreozymin den Transport der Verdauungsenzyme durch die Acinuszellmembran ins Acinuslumen hin beeinflußt.

Später konnte das Pankreozymin auch mit einer Steigerung der intrazellulären Enzymsynthese in Verbindung gebracht werden (30).

Aus den Befunden der hier vorliegenden Arbeit kann man schließen, daß eine hohe Pilocarpindosis nach einstündiger Wirkungsdauer einen Effekt auf den Sekretausstoßmodus der Pankreaszelle hat.

Unter Pilocarpin konnte darüber hinaus auch eine Wirkung auf den Zellkern beobachtet werden. Auf eine

erhöhte Proteinbiosyntheserate durch Pilocarpin ebenso wie unter Pankreozyminwirkung kann geschlossen werden, weil man eine gesteigerte RNS-Synthese und das vermehrte Auftreten von Ribosomen als Hinweis für eine gesteigerte Enzymsynthese ansehen muß.

Zusammenfassung

Pilocarpin wurde Ratten der Rasse Sprague Dawley in einer Dosis von 100 mg/kg intraperitoneal injiziert.

Nach einer bzw. drei Stunden wurden die Veränderungen an den exokrinen Pankreaszellen elektronenmikroskopisch untersucht.

Nach den verschieden langen Einwirkzeiten verhalten sich die Befunde zwar grundsätzlich gleich, zeigen dennoch gewisse Unterschiede.

Als Folge einstündiger Pilocarpineinwirkung treten in den Acinuszellen ungeordnete Sekretmassen auf, die die Interzellularräume an zahlreichen Stellen ausfüllen.

Membranumgebene Kondensationsvakuolen bzw. Zymogengranula finden sich auf keinem der nach einer Stunde erhaltenen Bilder. Als auffälligster Befund liegt hier eine beschleunigte und in ihrer Richtung veränderte Sekretausstoßung vor.

Nach dreistündiger Pilocarpinwirkzeit finden sich in den Interzellularspalten der Acinuszellen nur noch Sekretreste. Außerdem fällt jetzt die funktionelle Kernschwellung auf.

Als Zeichen gesteigerter Aktivität des Kerns läßt sich das im perinucleären Raum auftretende, elektronenoptisch dichte, fädige Material und die auf dem äußeren Blatt der Kernmembran perlschnurartig aufgereihten Ribosomen deuten.

Die Mitochondrien sind elektronenoptisch dichter als normal und sämtlich vom Crista Typ. Auch treten zum Teil Riesenmitochondrien auf. Dies spricht für ein erhöhtes Energieangebot an die Zelle.

Pilocarpin bewirkt an der exokrinen Pankreaszelle

anfangs eine beschleunigte und veränderte Sekret-
ausstoßung .

Nach drei Stunden bewirkt Pilocarpin Veränderungen
am Zellkern und an den Mitochondrien, die als
Voraussetzung für eine gesteigerte Proteinbio-
synthese interpretiert werden können.

B I L D M A T E R I A L

Abb. 1 : Exokrines Pankreas nach dreistündiger
Stimulation mit Pilocarpin.
Der Kern N der Acinuszelle ist glatt
und ungeschrumpft. Auf der äußeren Kernhülle
finden sich perlschnurartig aufgereihte
Ribosomen R . Der perinucleäre Raum er-
scheint elektronendicht ➡.

Vergrößerung: 70000 fach

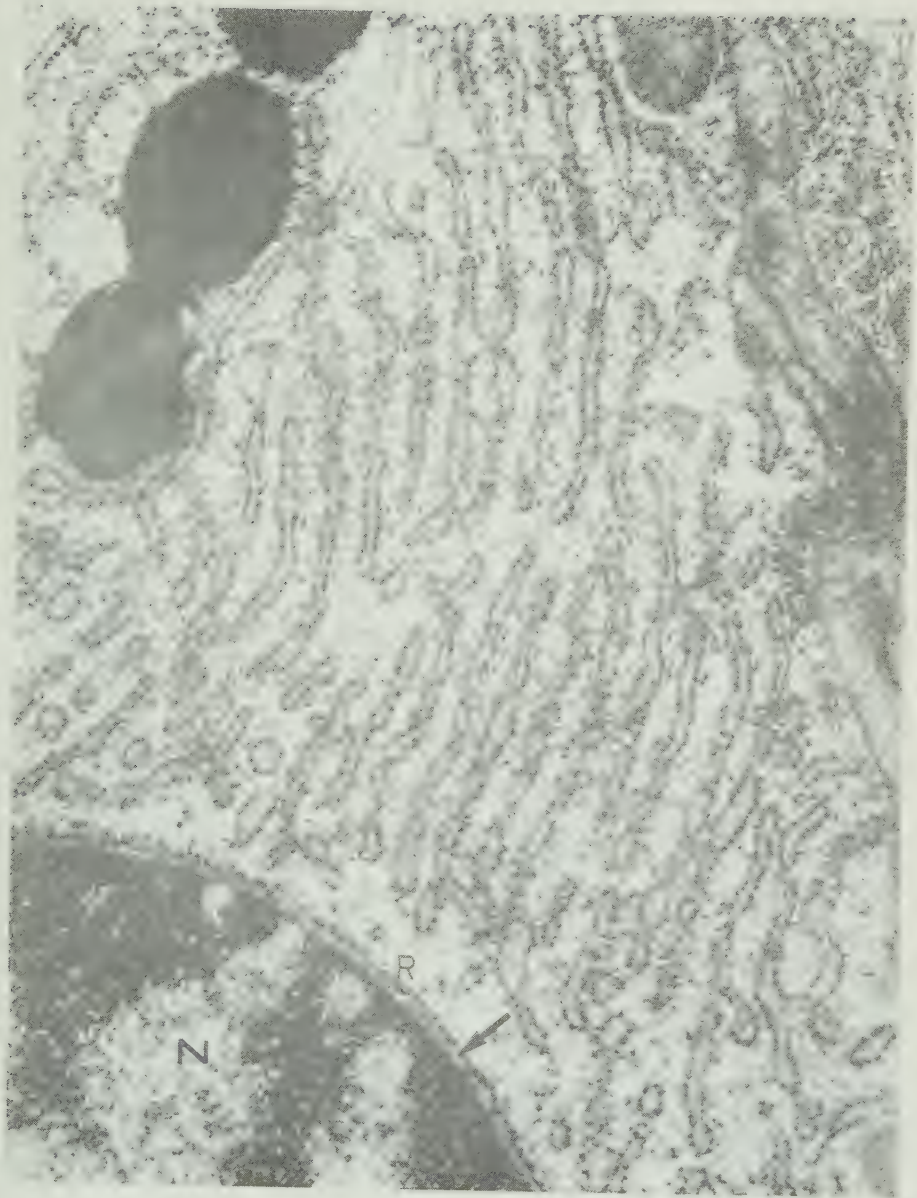


Abb. 1

1000 Å
└───┘

Abb. 2 : Exokrines Pankreas nach dreistündiger
Stimulation mit Pilocarpin.
Rechts ein tangential angeschnittener
Zellkern mit ca. 1000 Å großen Kern-
poren KP. Links im Bild ein Riesen-
mitochondrium RM.

Vergrößerung : 70000 fach

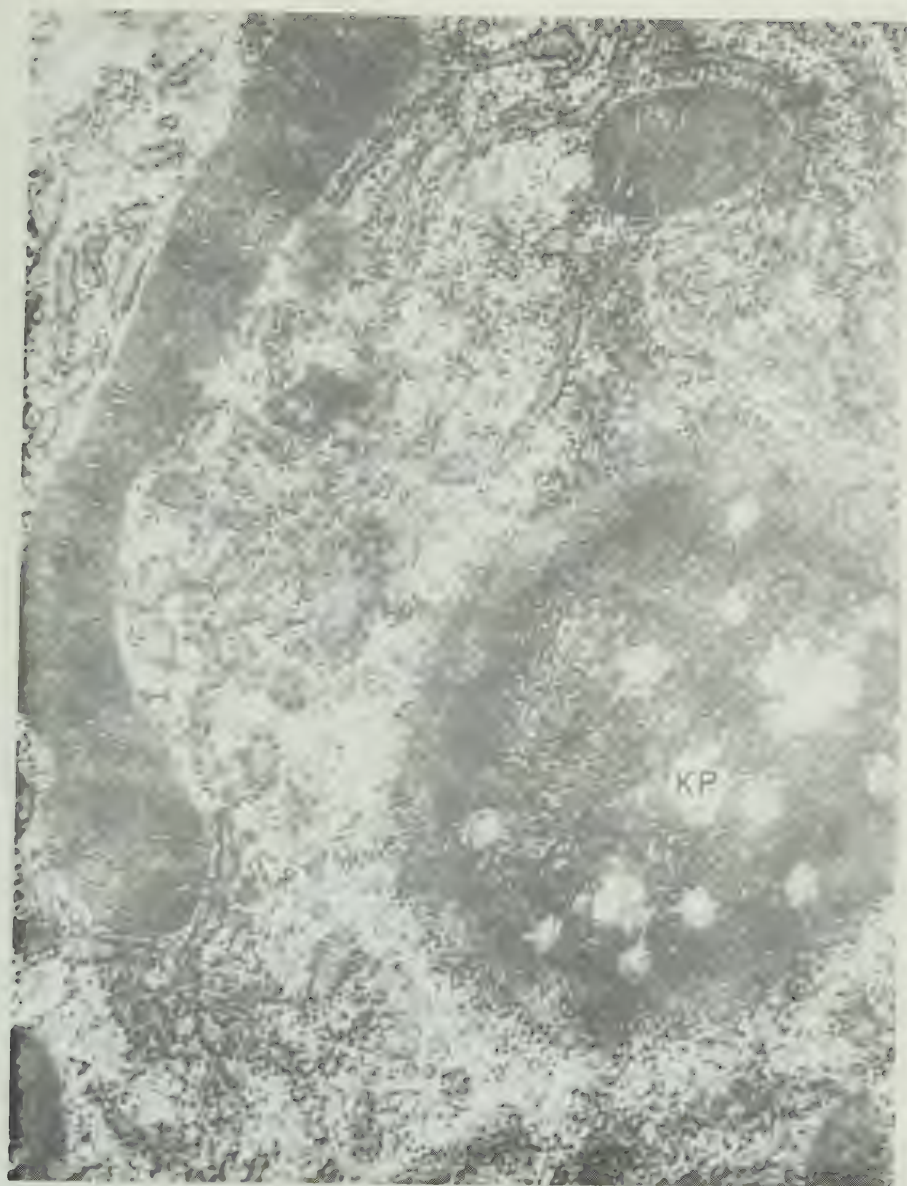


Abb. 2

1000 Å
└───┘

Abb. 3 : Exokrines Pankreas nach dreistündiger
Stimulation mit Pilocarpin.
Links oben sind die stark erweiterten,
mit Sekret gefüllten Interzellularräume I
zu sehen.
Kondensationsvakuolen KV.

Vergrößerung: 70000 fach

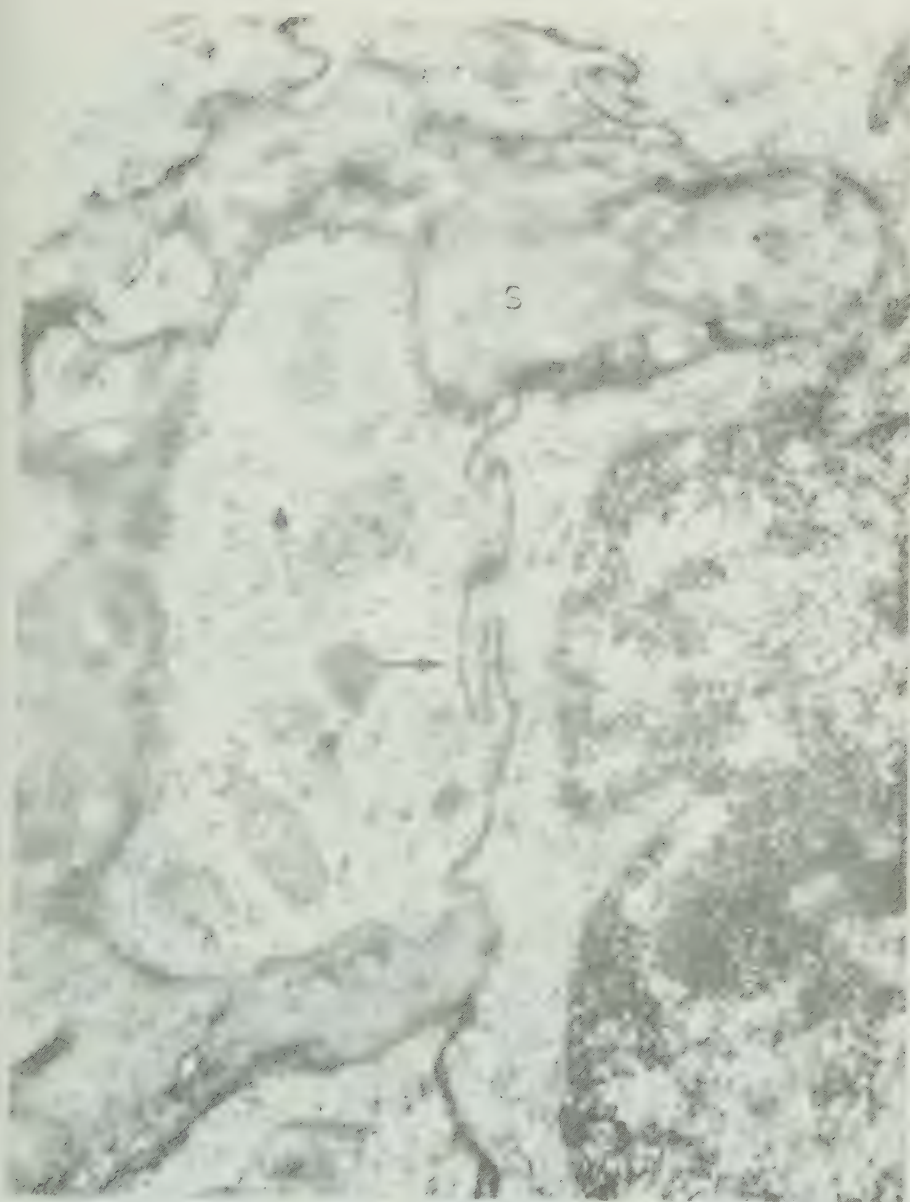


Abb. 3

1000 μ

Abb. 4 : Exokrines Pankreas nach einstündiger
Stimulation mit Pilocarpin.
Konfluierende inhomogene Sekretmassen S
verwischen die Grenzen einander benachbarter
Acinuszellen. Die Zellgrenzen zeigen einen
geschlängelten Verlauf ➡.

Vergrößerung: 56000 fach



Att. 4

1. M.

Abb. 5 : Exokrines Pankreas nach dreistündiger
Stimulation mit Pilocarpin.
Das Sekret liegt in Kondensationsvakuolen
bzw. Zymogengranula vor Z .Außerdem ist ein
Acinusbogen mit längs- und quergeschnittenen
Mikrovilli zu sehen ➡ .

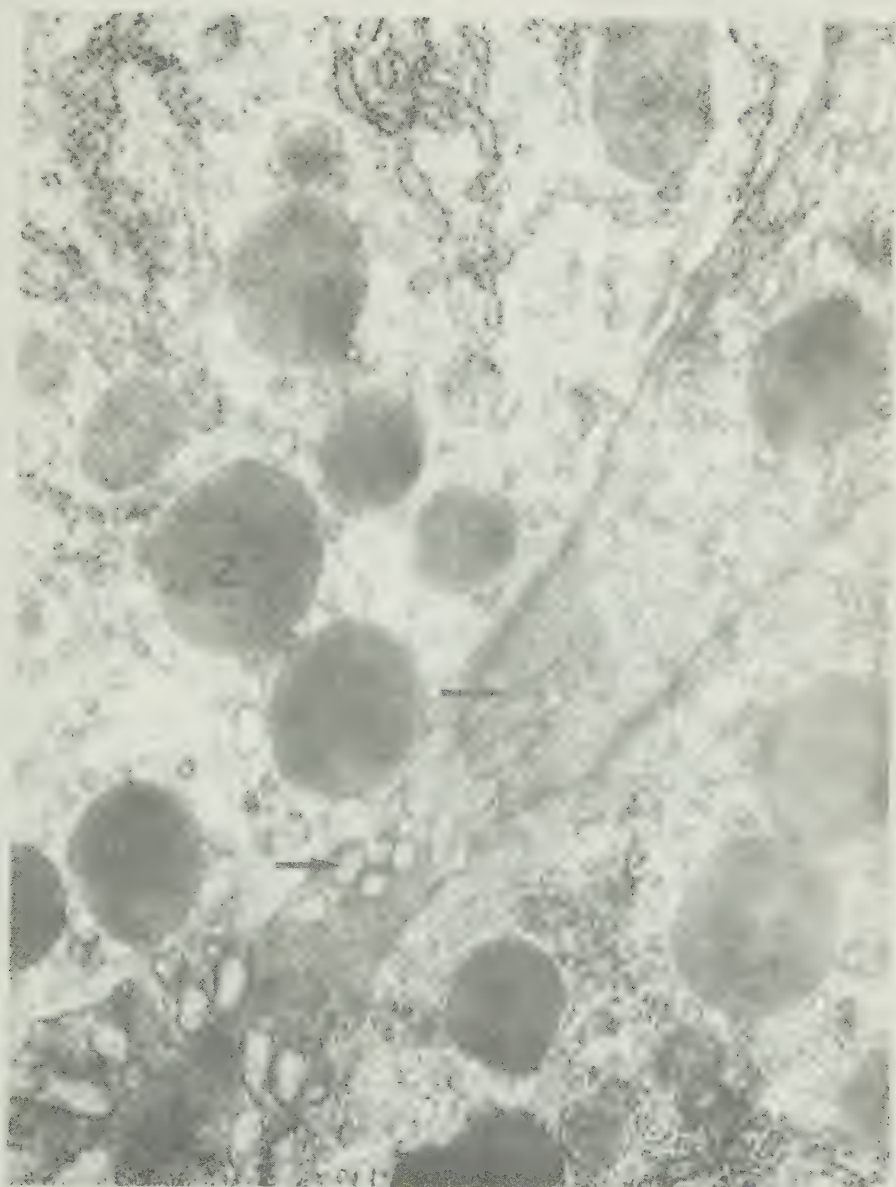


Abb. 5

1000 $\text{\AA}$
└───┘

Literaturverzeichnis

1. Bucher, O.: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Verlag Hans Huber. Bern 1973
2. Leonhardt, H.: Histologie und Cytologie des Menschen. Georg Thieme Verlag.
Stuttgart 1969.
3. Bencosme, S. A. and
Lechago, J.: Funktional anatomy of the pancreas.
Ciba foundation symposium on
-The exocrine pancreas-, J. and
A. Churchill. Ltd. London 1971.
4. Babkin, B. P.: Secretory mechanism of the digestive
glands. Hoeber Med. Div. New York
1950.
5. Siegenthaler, W.: Klinische Pathophysiologie.
Georg Thieme Verlag. Stuttgart
1973.
6. Haverback, B. J. B.
Dyce, H. Bundy,
H. A. Edmondson: Trypsin, trypsinogen and trypsin-
inhibitor in human pancreatic
juice. Amer. J. Med. 3 1960/424.
7. Fritz, H., M. Hutzl,
I. Hüller, M. Wiede-
mann, H. Stahlheber,
P. Lehnert, M. M. Forell:
Über das Sekretionsverhalten der
spezifischen Trypsininhibitoren
und des Kallikreinogens beim
Pankreas von Hund und Mensch.
Z. physiol. Chem. 348 (1967) 1575.

8. Kunitz, M., J. H. Northrop: Isolation from beef pancreas of crystalline trypsinogen, trypsin and trypsin inhibitor and a trypsin inhibitor compound. *J. gen. Physiol* 19 (1936) 991.
9. Thomas, J. E. : Neural regulation of pancreatic secretion in: *Handbook of physiologie Bd. II/6* hrsg. von C. F. Code Williams and Wilkins Baltimore 1967.
10. Keidel, W. D. : *Lehrbuch der Physiologie*. Georg Thieme Verlag .Stuttgart 1970.
11. Hokin, L. E. : Metabolic aspects and energetics of pancreatic secretion. In: *Handbook of physiology Bd. II/6* hrsg. C. F. Code Williams and Wilkins. Baltimore 1967.
12. Nultsch, W. : *Allgemeine Botanik*. Georg Thieme Verlag .Stuttgart 1968.
13. Redman, C. M., Sabatini D. D. : Victorial discharge of peptides released by puromycin from attached Ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 56 : 608 (1966).
14. Siekewitz, P., and G. E. Pallade: A cytochemical study of the pancreas of the guinea pig. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 7 619 1960.

15. Redman, C.M. : Studies of the transfer of incomplete polypeptide chains across rat liver mikrosomal membranes in vitro. J. of Biol. Chem. 242 : 761, 1967.
16. Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intracellular transport of sekretory proteins in the pancreatic exocrine cell. IV. Metabolic requirements. J. of cell Biol. 39 : 589 1968.
17. Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intracellular transport of sekretory proteins in the pancreatic exocrine cell. III. Dissociation of intracellular transport from protein synthesis. J. of cell Biol. 39 : 580 1968.
18. Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intracellular transport of sekretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi Komplex. J. of Cell Biol. 34, 1967.
19. Jamieson, J.D. and Palade, G.E. : Intracellular transport of sekretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport to condensing vakuoles and zymogen granules. J. of Cell Biol. 34 ; 1967

20. Kurosumi, K. : International symposion for
cellular chemistry. S. Seno and
E. V. Cowdry, editors. Japan society
of Cell Biol. Oklahoma, Japan p.259
1963.
21. Bainton, D.F. and
Farquhar, M.G. : J. of Cell Biol. 28 : 277 1966.
22. Smith, R.E. and
Farquhar, M.G. : J. of Cell Biol. 31 : 319 1966.
23. Essner, E. and
Novikoff, A.B. : J. of Cell Biol. 15 : 289 1962.
24. Jamieson, J.D. and
Palade, G.E. : Condensing vakuole conversion
and zymogen granule discharge
in pancreatic exocrine cell:
Metabolic studies. J. of Cell
Biol. 48 : 503 1971.
25. Kuschinsky, G. und
Lüllmann, H. : Lehrbuch der Pharmakologie. Georg
Thieme Verlag. Stuttgart. 1971.
26. Goodman, L.S. and
Gilman, A. : The pharmacological basis of
therapeutics. 3rd. edition.
The Macmillan Company. New York.
1965.
27. Holck and Cannon: Journal pharmacological. 1936.
Heft 57.

28. Ichikawa, A : Fine structural changes in response to hormonal stimulation of the perfused canine pancreas. J.of Cell Biol. 24 : 369 1965.
29. Hokin, L.E. and Hokin, M.R. : Studies of pancreatic tissue in vitro. Gastroenterologie. 36 : 368 1959.
30. Hokin, L.E. and Hokin, M.R. : Biochemical aspects of excitation of protein secretion in pancreas. In: Secretion and excretion. hrsg. K.E. Wohlfarth Bottermann. Springer. Heidelberg. 1965.

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr.med.Willy Schwarz
für die Überlassung des Themas, sowie für seine
bereitwillige Hilfe bei der Fertigstellung dieser
Arbeit.

Lebenslauf

Am 6. November 1946 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Rudolf Wiegmann und seiner Ehefrau Isa Wiegmann in Bernburg geboren.

Nach der Umsiedlung in die BRD besuchte ich von 1953 bis 1957 zunächst die Volksschule und von 1957 das neusprachlich naturwissenschaftliche Gymnasium in Braunschweig. Den Schulabschluß bildete 1966 das Abitur. Hieran schloß sich eine zweijährige Bundeswehrdienstzeit an.

Im Sommersemester 1969 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Im April 1970 bestand ich dort die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Oktober 1971 die ärztliche Vorprüfung. Den Abschluß des Studiums an der F.U. Berlin bildete am 18.2.76 das Staatsexamen.

Rudolf Schlüter

